



## Набор для определения Клостридий антигена

Clostridium Antigen ELISA KIT

**Кат. номер** : EIA-4203  
**Количество** : 96  
**Производитель** : DRG (USA)

**Внимание:** основой при проведении анализа есть оригинал инструкции на англ. языке.

Методика 04/01/2006

### НАЗНАЧЕНИЕ

Данный набор предназначен для качественного определения *in vitro* C.difficile toxin A+B в фекалиях. Он является двойным антителом (сэндвич) ELISA, что использует анти-токсин A+B антитела для захвата антигена с супернатанта стула. Второе анти-токсин A+B антитело потом добавляется и захваченный антиген оказывается в сэндвиче. Эта реакция визуализируется добавлением анти-второго антитела конъюгированного к пероксидазе и TMB. Развитие голубого цвета в результате указывает на присутствие C.difficile toxin A+B, захваченных антителами.

### ПРИНЦИП МЕТОДА.

Во время первой инкубации, C.difficile toxin A+B, что присутствуют в супернатанте стула, захватываются антителами, привязанными к ячееккам. Вторая инкубация добавляет дополнительные анти-toxin A+B антитела, что приводит к тому, что антиген оказывается в сэндвиче. Следующая инкубация добавляет анти-второе антитело конъюгированное к пероксидазе. После вымывания для удаления несвязанного энзима, добавляется хромоген, что развивает голубой цвет в присутствующем энзимном комплексе и перекиси. Стоп раствор останавливает реакцию и обращает голубой цвет на желтый.

### ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ.

- Стрипы микропланшета:** ячейки с анти- C.difficile toxin A+B поликлональными антителами – 96 ячеек
- Антитело:** 1 бут., содержащая 6 мл анти- toxin A+B поликлональных антител с голубым окрасом и тимерозал.
- Конъюгат:** 1 бут., содержащая 11 мл вторичного антитела, конъюгированного пероксидазой, с красным окрасом и тимерозал.
- Положительный контроль:** 2 флакона, содержащий 1 мл каждый или токсин А или токсин В в буфере.
- Отрицательный контроль:** 1 флакон, содержащий 1 мл буфера.
- Буфер для разбавления:** 2 бут., содержащие 30 мл буферного протеинового раствора

- TMB субстрат:** 1 бут., содержащая 11 мл хромоген TMB и перекись.
- Моющий концентрат 20x:** 1 бут., содержащие 25 мл концентрированного буфера и поверхностно-активного тимерозала.
- Стоп раствор:** 1 бут., содержащая 11 мл 1М фосфорной кислоты.

### ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ

- Не используйте растворы, если они содержат осад или становятся мутными. (Исключение: в моющем концентрате может быть осад при хранении в холодильнике, но он растворяется при нагревании.)
- Не добавляйте азиды в реагенты или образцы.
- Контроли и некоторые реагенты содержат тимерозал в качестве консерванта.
- Обращайтесь со всеми реагентами и образцами как с потенциально инфицированными.

### УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

Реагенты, стрипы и содержимое бутылок: храните при 2-8°C. Бутылка, содержащая разбавленный моющий буфер может храниться при комнатной температуре.

### ПРИГОТОВЛЕНИЕ

**Моющий буфер** – удалите крышку и добавьте содержимое 1 бутылки моющего концентрата в сдавливающую бутылку, что содержит 475 мл дистиллированной воды. Вращайте для смешивания. Сдавливающая бутылка должна иметь узкий наконечник для оптимального промывания.

### СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

#### Сбор стула (фекалий)

- Никакой особенной техники забора образцов, которая бы отличалась от технологии, что используется при стандартном бактериологическом изучении, не требуется. Образцы стула могут использоваться и не консервированные и замороженные. Приготовьте 1:4 (1 часть образца, размером с горошину и 3 части буфера для разбавления) разбавление образца стула, используя буфер для разбавления, что поставляется.
- Не консервированные образцы следует хранить при 2-8°C и тестировать в течении 24 часов после забора. Если образец не может использоваться в течении этого времени, он должен быть заморожен до -20°C или ниже. Замораживание не влияет на результаты анализа.
- Все разбавления необходимо делать с буфером для разбавления, что поставляется.

### ПРОЦЕДУРА

#### Необходимые материалы

Набор C.difficile toxin A+B антиген ELISA набор.

#### Материалы необходимые, но не поставляемые

- Пипетки
- Сдавливающая бутылка для промывания стрипов (рекомендуется узкий наконечник)
- Градуированный цилиндр

- DI вода

### Требуемое оборудование

Планшетный ридер с 450 и 620-650 нм фильтрами

### Подходящая температура

Все инкубации проводятся при комнатной температуре (15-25<sup>0</sup>С)

### ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

1. Поместите необходимое количество ячеек в держатель (число образцов плюс два контроля).
2. Добавьте 2 капли (приблизительно 100 мкл) отрицательного контроля в ячейку 1
3. Добавьте 2 капли (приблизительно 100 мкл) положительного токсина А и токсина В контроля в ячейку 2 и 3 соответственно.
4. Добавьте 2 капли образца супернатанта стула в каждую тестовую ячейку.
5. Инкубируйте 30 мин. при комнатной температуре (15-25<sup>0</sup>С), потом промойте.\*
6. Добавьте каплю реагента 1 (голубой раствор), затем 2 капли реагента 2 (красный раствор) в каждую ячейку. Смешайте 15-30 секунд\*\*.
7. Инкубируйте 10 мин., потом промойте.
8. Добавьте 2 капли хромогена в каждую ячейку.
9. Инкубируйте 10 мин.
10. Добавьте 2 капли стоп раствора в каждую ячейку. Смешайте хорошо постукиванием по внешней стенке держателя стрипов указательным пальцем.
11. Инкубируйте 1 минуту при комнатной температуре, потом считайте результаты визуально или при 450/620-650 нм. Обнулите ридер относительно воздуха.

*\*При промывании энергично наполните каждую ячейку до краев и декантируйте содержимое три раза. Стрипы потом необходимо вытряхнуть на сухое полотенце перед внесением следующих реагентов.*

*\*\*Два реагента необходимо тщательно перемешать. Это можно сделать встряхиванием или постукиванием планшета 10-20 секунд.*

*Контроли должны включаться каждый раз при проведении теста.*

### РЕЗУЛЬТАТЫ

#### Интерпретация результатов – визуальная

**Реактивный:** Ячейка образца, цвет которой наглядно более желтый, чем цвет ячейки с отрицательным контролем.

**Не реактивный:** Ячейка образца, цвет которой наглядно менее желтый, чем цвет ячейки отрицательного контроля.

Примечание: Отрицательный контроль, как и некоторые образцы могут давать некоторый светлый окрас. Для принятия положительного результата, ячейки образца должны быть очевидно темнее, чем ячейка отрицательного контроля.

#### Интерпретация результатов – ELISA ридер

Обнулируйте ридер относительно воздуха. Считайте все ячейки при 450/620-650 нм.

**Реактивный:** если абсорбция образцов равна 0,15 единиц ОП или выше, это указывает на то, что образцы содержат C.difficile toxin.

**Не реактивный:** если абсорбция ниже 0,15 единиц ОП, это указывает на то, что образцы не содержат определяемый уровень C.difficile toxin.

### ОГРАНИЧЕНИЕ ПРОЦЕДУРЫ

- Результаты теста должны использоваться в целях диагностики и не должны интерпретироваться как диагноз сами по себе.
- Не концентрируйте образцы стула. Анализ при этом может не показать точных результатов.
- Отрицательные результаты могут быть при уровне антигена ниже, чем определяемая граница этого анализа. Повторите анализ через некоторое время при подозрении положительного результата на C.difficile у пациента.

### ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Нормальные здоровые индивиды не должны содержать C.difficile toxin и должны тестироваться как отрицательные. Положительная реакция указывает, что у пациента был выброс определяемого количества C.difficile toxin.

### ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

Данные относительно специфичности, чувствительности и перекрестной реактивности доступны по запросу.

### Контроль качества

Использование положительного и отрицательного контроля дает возможность простой оценки пригодности набора. Для этого положительный контроль должен давать абсорбцию, по крайней мере, 0,5 единиц ОП и абсорбция отрицательного контроля должна быть меньше, чем 0,15 единиц ОП. Если значения не попадают в этот лимит, набор не следует использовать.

### НЕИСПРАВНОСТИ

**Проблема:** отрицательный контроль показывает существенное развитие цвета.

**Коррекция:** Было неточным промывание. Удалите остаток жидкости из ячеек встряхиванием планшета на абсорбирующую бумагу. Не давайте возможности тестовым ячейкам высохнуть.

### Информация для заказа:

**ЧМП «ДИАМЕБ»**

Ул. Черновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005

Тел.: (0342) 775122

Тел/факс: (0342) 775612

E-mail: [info@diameb.com](mailto:info@diameb.com)